

Л.П. Кадан, І.В. Найда, А.С. Фірсова, О.В. Іванкова, В.М. Петішкіна
ФЕРМЕНТАТИВНА АКТИВНІСТЬ ФАГОЦИТУЮЧИХ КЛІТИН ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ
У ХВОРИХ НА ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

Інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського АМН України

Відомо, що внутрішньоклітинна та позаклітинна бактерицидна дія фагоцитів (нейтрофілних гранулоцитів, моноцитів/макрофагів) здійснюється кисеньзалежною та кисеньнезалежною системами, які тісно поєднані між собою і обумовлюють одна одну. В результаті окислювального метаболізму фагоцитів утворюються сполуки активованого кисню. Ланцюг метаболічних перетворень здійснюється за допомогою ферменту мієлопероксидази, якою особливо багаті нейтрофілні гранулоцити. Основу кисеньнезалежної системи складає сукупність різноманітних лізосомальних ферментів (кислі гідролази, нейтральні протеїнази, лізоцим, лактоферін та ін.). Протеолітичні ферменти також беруть участь в лізисі клітинного детриту, фібрину та інших білкових компонентів запального ексудату і таким чином сприяють очищенню зони ураження [1, 5, 7].

При туберкульозному запаленні інтенсивність звільнення сполук активованого кисню та протеїназ різко зростає і при цьому виникає дефіцит їх інгібіторів. Такий дисбаланс в системах оксиданти-антиоксиданти, протеїнази-інгібітори може визначати тяжкість інтоксикації, обумовлювати розповсюдженість, характер запалення і розвиток деструкції, негативно впливати на стан систем гомеостазу та призводити до виснаження їх фізіологічних адаптаційних можливостей [3, 4]. Саме тому, в клініці туберкульозного запалення великого значення набувають дослідження стану метаболічних процесів і визначення активності лізосомальних ферментів фагоцитуючих клітин.

Метою нашого дослідження було вивчення динаміки змін ферментативної активності нейтрофілоцитів та моноцитів периферичної крові хворих на вперше діагностований туберкульоз легень в процесі проведення специфічного лікування та в залежності від важкості перебігу та темпів інволюції патологічного процесу.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клініко-імунологічні дослідження були виконані у 29 хворих на вперше діагностований туберкульоз легень (ВДТЛ) і проводилися перед початком лікування у клініці інституту (дослідження № 1), в процесі стаціонарного лікування після зникнення клінічних ознак інтоксикації (дослідження № 2) та при закінченні основного курсу протитуберкульозної хіміотерапії (дослідження № 3).

Розподіл хворих за клінічними формами туберкульозу легень був таким: у 23 (79,3 %) пацієнтів переважав інфільтративний туберкульоз легень, у 4 осіб (13,8 %) було діагностовано дисеміновану форму захворювання, один хворий (13,45 %) страждав на вогнищевий туберкульоз та один (13,45 %) — на фіброзно-кавернозний.

З метою визначення тяжкості інтоксикаційного синдрому кожного конкретного хворого був використаний математичний метод В. М. Фрайта [6]. Ступінь виразності відповідних симптомів (кашель, мокрота, слабкість, пітливість, анорексія, зниження ваги тіла, пульс, температура) пацієнтів обчислювали у балах (0, 1, 2, 3). Це дало змогу представити інтоксикаційний синдром у вигляді загального клінічного індексу інтоксикації (KII) та виділити I, II, III і IV ступені клінічних проявів інтоксикації.

В залежності від важкості перебігу туберкульозу легень та темпів його інволюції хворі були розподілені на дві групи.

Першу групу зі швидким темпом інволюції туберкульозу легень склали 13 осіб. До неї увійшли 12 пацієнтів (92,3 %), які страждали на інфільтративний туберкульоз легень і 1 хворий (7,7 %) із вогнищевою формою. У 7 обстежених був діагностований I ступінь інтоксикаційних проявів, у 5 осіб виразність симптомів інтоксикації була оцінена як II ступінь та в одного пацієнта — як III ступінь. В процесі лікування досягнуто припинення бактеріовиділення за 1,5–2 місяці, симптоми інтоксикації зникали за 0,5–1 місяць, значне чи повне розсмоктування інфільтрації в легенях спостерігалось протягом 2–4 місяців. Час перебування у стаціонарі склав $124,8 \pm 8,3$ ліжко-днів.

Другу групу з більш важким перебігом туберкульозу легень із звичайними та сповільненими темпами інволюції процесу склали 16 хворих. У 11 осіб (68,75 %) була діагностована інфільтративна форма туберкульозу легень, у 4 хворих (25,0 %) — дисемінована та один обстежений (6,25 %) страждав на фіброзно-кавернозний туберкульоз. Особливості виразності інтоксикаційних проявів були оцінені таким чином: у 4 хворих — як I ступінь, у 8 осіб — як II та у 4 пацієнтів — як III ступінь тяжкості інтоксикаційного синдрому. Зменшення масивності бактеріовиділення чи його припинення в цій групі хворих відбувалося в середньому за 2–4 місяці, симптоми інтоксикації зникали за 1,2–1,5 місяці, значне розсмоктування інфільтративних змін в легенях відбувалось за 5 місяців, загоєння, зменшення розмірів, витончення стінок, або кістозна трансформація каверн спостерігались через 6 місяців після початку лікування. Час перебування у стаціонарі склав $160,1,8 \pm 6,5$ ліжко-днів.

Дослідження ферментативної активності нейтрофілних гранулоцитів (НГ) та моноцитів (Мц) периферичної крові (ПК) хворих на ВДТЛ проводили, обчислюючи відносний та абсолютний вміст Мц та НГ; фагоцити з периферичної крові виділяли стандартним методом за допомогою фікол-верографіну з густиною розчину 1,080 г/мл та в подальшому проводили всі реакції з окремими їх популяціями (Мц та НГ) після адгезії клітин до скла. Активність лужної фосфатази

(ЛФ) НГ, катіонних білків (КБ) НГ, кислої фосфатази (КФ) Мц та мієлопероксидази (МПО) фагоцитуючих клітин оцінювали за допомогою цитохімічних методів [2, 9, 11], обчислюючи відсоток клітин, що містили гранули ферментів та середній гістохімічний коефіцієнт (СГК), який відображав ступінь активності клітин [8].

Статистичні методи обробки матеріалу за параметричними методами варіаційної статистики з використанням критерію Ст'юдента здійснювали на персональному комп'ютері за допомогою програми Excel 2000 для Windows 98.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати імунологічного обстеження, отримані при госпіталізації хворих на ВДТЛ (табл.1), показали достовірне збільшення нейтрофілоцитів у периферичній крові пацієнтів. Визначалася велика кількість клітин, що містили ЛФ та МПО із підвищеним ступенем активності. Була встановлена кореляція між зникненням клінічних симптомів інтоксикації та нормалізацією вмісту нейтрофілоцитів у периферичній крові хворих з частковим зниженням в них активності ЛФ та МПО. Імунологічне дослідження, проведене хворим по закінченні стаціонарного етапу лікування, продемонструвало практично повну нормалізацію метаболічної активності НГ. Вміст та активність катіонних білків в НГ протягом всього періоду протитуберкульозної терапії вірогідно не змінювалися.

В периферичній крові хворих на початку лікування визначалася велика кількість моноцитів. Для цих клітин була характерна значна мієлопероксидазна активність, підвищений вміст КФ, а її часткове зниження та нормалізація кількості моноцитів в крові корелювали зі зникненням симптомів інтоксикації у обстежених осіб. По закінченню стаціонарного етапу лікування зареєстровано нормалізацію ферментативної активності клітин.

Таблиця 1

Показники ферментативної активності фагоцитуючих клітин периферичної крові у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень ($M \pm m$)

Показники	Здорові особи	Хворі на туберкульоз легень		
		1-е дослідження	2-е дослідження	3-е дослідження
Нейтрофілоцити:				
Вміст у ПК: %	56,7 ± 1,2	61,5 ± 1,8	60,3 ± 2,0	59,7 ± 2,4
Г/л	3,50 ± 0,18	4,75 ± 0,27 ^o	4,68 ± 0,34 ^o	3,95 ± 0,41
ЛФ %	57,4 ± 4,5	73,5 ± 2,5 ^o	70,0 ± 4,0	59,8 ± 5,3*
СГК у.о.	0,87 ± 0,10	1,31 ± 0,08 ^o	1,24 ± 0,11 ^o	0,95 ± 0,13*
МПО %	76,8 ± 3,6	90,0 ± 1,6 ^o	83,7 ± 4,2	82,2 ± 2,7*
СГК у.о.	1,32 ± 0,12	1,83 ± 0,10 ^o	1,37 ± 0,10 [#]	1,41 ± 0,09*
КБ %	83,5 ± 3,8	83,6 ± 2,0	85,0 ± 1,6	83,4 ± 2,1
СГК у.о.	1,36 ± 0,10	1,37 ± 0,10	1,35 ± 0,05	1,30 ± 0,07
Моноцити:				
Вміст у ПК: %	3,5 ± 0,18	5,1 ± 0,5 ^o	3,1 ± 0,4 [#]	3,3 ± 0,4*
Г/л	0,24 ± 0,03	0,37 ± 0,03 ^o	0,22 ± 0,02 [#]	0,20 ± 0,02*
КФ %	51,8 ± 3,4	64,4 ± 3,5 ^o	57,8 ± 3,2	55,2 ± 4,1
СГК у.о.	0,77 ± 0,06	0,94 ± 0,07	0,90 ± 0,06	0,83 ± 0,07
МПО %	24,1 ± 3,1	54,8 ± 6,1 ^o	43,1 ± 4,7	26,2 ± 1,9**
СГК у.о.	0,27 ± 0,04	0,94 ± 0,17 ^o	0,60 ± 0,10 ^o	0,30 ± 0,03**

Примітки: ⁰ — різниця з контрольним показником вірогідна ($p < 0,05$); [#] — різниця між показниками 1-го та 2-го дослідження вірогідна ($p < 0,05$); * — різниця між показниками 1-го та 3-го дослідження вірогідна ($p < 0,05$); * — різниця між показниками 2-го та 3-го дослідження вірогідна ($p < 0,05$)

Таблиця 2

Показники ферментативної активності фагоцитуючих клітин периферичної крові у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень в залежності від важкості перебігу патологічного процесу ($M \pm m$)

Показники	Здорові особи	Хворі на туберкульоз легень					
		1 група			2 група		
		1 дослідження	2 дослідження	3 дослідження	1 дослідження	2 дослідження	3 дослідження
Нейтрофілоцити:							
Вміст у ПК: %	56,7 ± 1,2	58,9 ± 1,7	59,9 ± 2,66	54,2 ± 2,9	63,4 ± 2,7	5,15 ± 0,46 ⁰	63,2 ± 3,1 ⁶
Г/л	3,50 ± 0,18	4,34 ± 0,36	4,49 ± 0,48	3,06 ± 0,24**	05,06 ± 0,37	60,6 ± 2,9	4,5 ± 0,6
ЛФ	57,4 ± 4,3	68,8 ± 3,8	6,7 ± 4,9	46,4 ± 4,1**	078,4 ± 2,8 ⁰⁶	70,6 ± 5,3 [#]	71,3 ± 7,1 ⁰⁶
СГК у.о.	0,87 ± 0,10	1,08 ± 0,10	1,08 ± 0,19	0,64 ± 0,09**	1,50 ± 0,11 ⁰⁶	1,32± 0,13 ⁰	1,12 ± 0,18 ⁶
МПО %	76,8 ± 3,6	88,5 ± 2,6 0	81,4 ± 4,8	82,6 ± 2,6	91,5 ± 1,6 0	76,1 ± 4,1 [#]	82,0 ± 3,5*
СГК у.о.	1,32 ± 0,12	1,63 ± 0,13	1,40 ± 0,13	1,26 ± 0,10*	2,02 ± 0,12 ⁰⁶	1,35 ± 0,15 [#]	1,52 ± 0,14*
КБ %	83,5 ± 3,8	77,1 ± 2,7	83,2 ± 3,3	83,0 ± 2,5	88,5 ± 1,4 ⁶	86,0 ± 1,6	83,6 ± 2,9
Моноцити:							
Вміст у ПК: %	3,5 ± 0,18	4,8 ± 0,8	3,4 ± 0,7	4,0 ± 0,8	5,4 ± 0,6 ⁰	2,9 ± 0,5 [#]	2,9 ± 0,5*
Г/л	0,24 ± 0,03	0,32 ± 0,04	0,21 ± 0,03	0,22 ± 0,04	0,41 ± 0,04 ⁰	0,23 ± 0,03 [#]	0,18 ± 0,03*
КФ %	51,8 ± 3,4	62,3 ± 6,4	58,3 ± 4,3	44,5 ± 4,6**	68,1 ± 5,2 ⁰	58,5 ± 5,6	63,5,3 ± 5,2 ⁶
СГК у.о.	0,77 ± 0,06	0,86 ± 0,12	0,98 ± 0,11	0,62 ± 0,08*	1,03 ± 0,11 ⁰	0,83 ± 0,10	0,93 ± 0,09&
МПО %	24,1 ± 2,4	50,1 ± 8,9 0	41,2 ± 6,9	27,0 ± 2,5*	59,1 ± 8,2 ⁰	44,5 ± 6,3 0	25,6 ± 2,8**
СГК у.о.	0,27 ± 0,04	0,81 ± 0,25 0	0,54 ± 0,15	0,29 ± 0,02*	1,06 ± 0,23 ⁰	0,64 ± 0,14 0	0,30 ± 0,05**

Примітки: ⁰ — різниця з контрольним показником вірогідна ($p < 0,05$); [#] — різниця між показниками 1-го та 2-го дослідження вірогідна ($p < 0,05$); * — різниця між показниками 1-го та 3-го дослідження вірогідна ($p < 0,05$); * — різниця між показниками 2-го та 3-го дослідження вірогідна ($p < 0,05$); ⁶ — різниця між показниками 1 та 2 груп в аналогічні терміни дослідження вірогідна ($p < 0,05$)

Аналізуючи дані, одержані при дослідженні метаболічної активності фагоцитуючих клітин периферичної крові пацієнтів на ВДТЛ в залежності від важкості перебігу захворювання та темпів його інволюції (табл. 2), ми встановили, що у хворих першої групи перебіг патологічного процесу супроводжувався на початку лікування незначним підвищенням абсолютної кількості НГ, що містять ЛФ та МПО. Після зникнення симптомів інтоксикації відбувалася нормалізація практично всіх кількісних та функціональних показників НГ, що досліджувалися, і ці параметри не змінювалися до кінця спостереження за пацієнтами.

Встановлено, що у хворих I групи (табл. 2) на протязі лікування не відбувалося вірогідних змін кількості Мц у ПК та активності в них КФ. Спостерігалася лише внутрішньоклітинна активація МПО, про що свідчили і відсоток активних клітин, і значення СГК. Після зникнення симптомів інтоксикації реєструвалося падіння МПО-активності Мц і до кінця лікування хворих вона залишалася в межах контрольних показників здорових осіб.

Для функціонального стану НГ обстежених другої групи, поряд зі збільшенням кількості у ПК, був притаманний високий ступінь їх активності. Визначалася велика кількість клітин з надмірною активністю лужної фосфатази та мієлопероксидази. При другому обстеженні пацієнтів спостерігалася тільки зниження активності МПО, але вміст НГ у ПК та активність в них ЛФ не зменшувалися. Лише наприкінці лікування хворих відбувалася нормалізація кисеньзалежного та кисеньнезалежного метаболізму НГ.

На початку лікування у хворих II групи (табл. 2) в ПК було визначено підвищення кількості Мц та значну активацію в цих клітинах КФ та МПО. При другому обстеженні пацієнтів спостерігалася деяке зниження активності цих ферментів, але відсоток МПО-позитивних клітин та ступінь її активності продовжували залишатися вірогідно вищими, ніж у здорових осіб і нормалізувалися лише по завершенні основного курсу протитуберкульозної терапії. Кількість Мц з підвищеною активністю КФ, як свідчать дані, отримані при третьому обстеженні пацієнтів, залишилася високою.

Таким чином, порівняльне дослідження функціональної активності НГ і Мц хворих з різним характером перебігу туберкульозного процесу показало, що у осіб з більш важким перебігом хвороби відбувається гіперактивація метаболічних процесів у фагоцитуючих клітинах і вона підтримується більш тривалий час, ніж у осіб із швидкою інволюцією патологічного процесу в легенях.

ВИСНОВКИ:

1. Перебіг патологічного процесу у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень супроводжується змінами ферментативної активності фагоцитуючих клітин. Ці зміни є важливими чинниками, що обумовлюють особливості перебігу, строки інволюції та наслідки захворювання.

2. Динаміка змін ферментативної активності відображає перебіг захворювання в процесі антибактеріальної терапії. Так, у хворих із прискореним темпом інволюції туберкульозного процесу, припинення бактеріовиділення, зникнення симптомів інтоксикації та появи позитивної рентгенологічної динаміки спостерігається незначна активація та швидка нормалізація ферментативної активності НГ та Мц. У пацієнтів із звичайним та сповільненим темпом зникнення клінічних ознак за-

хворювання визначається надмірна активація та подовжені строки метаболічної активності фагоцитів.

3. Визначення та динамічне спостереження за рівнем активації ферментів фагоцитуючих клітин периферичної крові у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень дозволяє відслідковувати перебіг захворювання та ефективність його лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Адо А.Д., Маянский А.Н. Современное состояние учения о фагоцитозе // Иммунология. — 1983. — № 1. — С. 20–26.
2. Аладов А.Т., Вишнякова А.П. Цитохимический анализ катионных белков гранулоцитов // Лабораторное дело. — 1978. — № 9. — С. 525–528.
3. Дунтау А.П., Ефремов А.В., Бакаев В.В. Механизмы эндотоксикоза при туберкулезе легких // Проблемы туберкулеза. — 2000. — № 1. — С. 37–39.
4. Каминская Г.О. Роль биохимических исследований в формировании современных представлений о патогенезе туберкулеза // Проблемы туберкулеза. — 1996. — № 1. — С. 59–63.
5. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. — Новосибирск: Наука, 1989. — 344 с.
6. Фрайт В. М. Математический метод оценки тяжести заболевания, анализа эффективности лечения и прогноза при диссеминированном и инфильтративном туберкулезе легких // Туберкулез: Респ. межвед. сб. — Киев, 1992. — Вып. 4. — С. 123–126.
7. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов. — Москва: Медицина, 1984. — 271 с.
8. Цитохимия и электронная микроскопия клеток и кроветворных органов / Бутенко З.А., Глузман Д.Ф., Зак К.П. и др. — Киев: Наукова думка, 1974. — 248 с.
9. Golberg A., Barka T. Acid phosphatase activity in human blood cells // Nature. — 1962. — V. 195. — P. 297.
10. Kaplow L.S. Leucocyte alkaline phosphatase cytochemistry: application and methods // Amer. N.Y. Acad. Sci. — 1968. — V. 155. — P. 911.
11. Laboratory manual of neutrophil function / J.A. Metcalf, J.I. Gallin, W.M. Nauseef, R.K. Root // "Raven Press", New York, 1986. — 191 p.

ФЕРМЕНТАТИВНА АКТИВНІСТЬ ФАГОЦИТУЮЧИХ КЛІТИН ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ НА ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

Л.П. Кадан, І.В. Найда, А.С. Фірсова, О.В.
Іванкова, В.М. Петішкіна

Резюме

У 29 хворих на вперше діагностований туберкульоз легень в залежності від важкості перебігу та темпів інволюції патологічного процесу вивчено ферментативну активність нейтрофілоцитів та моноцитів периферичної крові. Показано, що перебіг туберкульозу супроводжується змінами ферментативної активності фагоцитуючих клітин, а визначення та динамічне спостереження за рівнем активації ферментів фагоцитуючих клітин периферичної крові у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень дозволяє відслідковувати перебіг захворювання та ефективність його лікування.

FERMENTATION ACTIVITY OF PHAGOCYtic CELLS OF PERIPHERAL BLOOD IN THE PATI- ENTS WITH THE NEWLY DIAGNOSED LUNG TUBERCULOSIS

L.P. Kadan, I.V. Nayda, A.S. Firsova,
H.V. Ivankova, V.M. Petishkina

Summary

Fermentation activity of neutrophils and monocytes in peripheral blood was investigated in 29 patients with the newly diagnosed lung tuberculosis depending on grade of disease and involution rates of pathological process. It was shown, that the course of tuberculosis disease was accompanied by changes in fermentation activity of phagocytic cells. It was also shown that dynamic supervision of the level of enzyme activation in phagocytic cells of peripheral blood in the patients with newly diagnosed lung tuberculosis allowed to trace the course of disease and the efficiency of its treatment.